

## HIV 抗体検査陽性判明者の HIV 分子疫学的解析とリスク行動の関連に関する研究

研究分担者：川畑 拓也 (大阪府立公衆衛生研究所感染症部ウイルス課 主任研究員)  
研究協力者：小島 洋子 (大阪府立公衆衛生研究所 主任研究員)  
森 治代 (大阪府立公衆衛生研究所 主任研究員)  
毛受 矩子 (スマートらいふネット 理事長)  
岩佐 厚 (岩佐クリニック 院長)  
亀岡 博 (亀岡クリニック 院長)  
菅野 展史 (菅野クリニック 院長)  
近藤 雅彦 (近藤クリニック 院長)  
杉本 賢治 (京橋杉本クリニック 院長)  
高田 昌彦 (高田泌尿器科 院長)  
田端 運久 (田端医院 院長)  
中村 幸生 (中村クリニック 院長)  
古林 敬一 (そねざき古林診療所 所長)  
永井 仁美 (大阪府)  
田中 佐代子 (大阪府)  
研究代表者：日高 庸晴 (宝塚大学看護学部)

### 研究要旨

日本における HIV 感染拡大の対策に資する資料を得るため、国内ではこれまであまり積極的には行われてこなかった、HIV 検査受検者への行動疫学調査(質問紙調査)と検査結果を関連づけて解析することを検討した。今回は、検査で HIV 陽性と判明した者の感染している HIV 遺伝子を解析し、遺伝的に近い関係にある HIV に感染している者同士をリスクが共通している群と仮定し、各群のリスク因子を解析することで特徴的なリスク因子を見出すことを目的とした。特設検査場での質問紙調査は予定より遅れたが、医療機関での HIV 検査受検者への質問紙調査を実施し、これまでに 4 例の HIV 陽性者の回答を得た。近縁の HIV に感染した群で共通したリスクを解析するには今のところ例数が少ないが、調査を継続し、また協力施設を増やすことで例数が増えれば、当初の計画通り解析可能と思われた。

### A. 研究目的

日本国内における HIV 感染は、主として推計で男性の成人人口の約 4% 程度を占める性的マイノリティであるゲイ・バイセクシャル男性の中で MSM (男性と性交する男性) を中心に拡大している(文献 1)。これまで、HIV 検査を受検する人を対象とした行動疫学調査(質問紙調査)(文献 2)や、インターネットを用いた調査(文献 3)等で、HIV 感染者の多くを占める MSM のリスク行動はある程度明らかになってきている。しかしながら、MSM のなかでも、特にこういったリスク行動をとる人たちの間で HIV 感染が拡大しているかは、これまで国内では、行動疫学調査と検査結果が関連づけられてこなかったため、真に明らかになっているとは言いがたい。一方、海外では行動疫学調査と検査結果を関連づけた研究は珍しくない(文献 4、5)

今回、HIV 検査受検者に行動疫学調査を行い、HIV 検査の結果が陽性である場合、HIV 遺伝子の塩基配列の類似性を利用し、遺伝的に近縁な HIV に感染しているもの同士を共通したリスクを持つ群と仮定する。次に、各群に共通した行動様式を行動疫学調査の結果から解析し、その行動様式より HIV 感染に関して高い関連性を示すリスク行動を検索する。こうして明らかとなる HIV 感染に対して強く関連するリスク因子を感染拡大の対策に資する資料とすることを目的とする。(資料 1)

### B. 研究方法

#### 0. 研究手法の検討

本研究では、HIV 陽性者の感染に関するリスク行動を正確に把握する事が非常に大切となる。研究に着手する前に行った HIV 陽性者への聞き

取り調査から、HIV 陽性判明後に拠点病院等で行われる性行動に関する質問紙調査では、HIV 陽性者が自身を治療する医師に気後れして、ありのままの性行動等を回答できず(「良い子の回答」になってしまい)、正確なリスク評価が難しい事が明らかとなった。(同様の議論が、最近実施された HIV 陽性者を対象としたインターネット調査でも調査方法の企画段階で行われたと聞いている。(文献6))

そこで本研究では、より正確なリスク行動を把握するため、HIV 陽性判明前の HIV/STI 検査受検時に行動疫学調査を実施し、HIV/STI 検査結果と関連づけて解析する手法を採用することとした。

### 1.受検者行動疫学調査

行動疫学調査の質問紙は、MSM 向け web アンケート調査の質問を参考に作成した。(資料2) 研究計画では、まず大阪府内の保健所・特設検査場において HIV 検査受検者へ質問紙調査を実施する予定であった。しかしながら、諸処の理由から本年度は実施出来るまでには至らなかった。そこで研究計画を一年前倒しし、大阪府内の診療所において HIV/STI 検査を実施している医師の協力を得て、HIV/STI 検査受検者を対象に調査を実施した。行動疫学調査は、同意が得られたものから回答を得た。医師により受検者と質問紙に共通の ID が付与され、検査結果と調査の回答は、この ID により関連づけた。

### 2.HIV の分子疫学解析

HIV 検査で陽性が確定した場合には、その陽性者の HIV について分子疫学解析を行った。方法としては、血清検体 140 $\mu$ l から QIAamp viral RNA mini kit (QIAGEN) を用いてウイルス RNA を抽出し、RT-nested-PCR 法により HIV-1 *env*-C2V3 領域(標準株 HXB2:7050-7409 塩基)を増幅した。目的とするサイズの DNA が増幅されていることをアガロースゲル電気泳動により確認した後、BigDye Terminator 法を用いたダイレクトシーケンスにより増幅産物の塩基配列を決定した。塩基が混在しダイレクトシーケンスでは解読困難なものについては TA クローニングを実施し、1 サンプルにつき 5~8 クローンのシーケンスを行なった。シーケンス解析には ABI 3130 ジェネティックアナライザー (Applied Biosystems) を使用した。得られた HIV-1 *env*-C2V3 領域の塩基配列をもとに MEGA5 を用いて系統樹を作成し、サブタイプの決定および疫学的解析を行なった。

本年度は陽性の例数が少ないことが予想されたので、地域で 2009 年から 2014 年に検出された HIV を対照として、解析を行った。

### 3.リスク因子の統合解析

密封された行動疫学調査の回答入り封筒を、各診療所から回収し、大阪府立公衆衛生研究所において所定の場所に施錠して厳重に保管した。

(倫理面への配慮)

本研究は大阪府立公衆衛生研究所運営審査会倫理審査部会の承認を経て実施した(申請番号 1402-03)。また各種ガイドラインを遵守し、検査受検者、HIV 陽性者の人権に最大限の配慮を行った。

## C. 研究結果

### 1.受検者行動疫学調査

協力医療機関 9 ヶ所において HIV/STI 検査を受検する MSM に行動疫学調査を実施し、これまでに約 150 名から同意を得て検査結果判明前に回答を回収した。その内 4 名が HIV 検査で陽性が確定した。

### 2.HIV の分子疫学解析

行動疫学調査の質問紙に回答し、かつ HIV 検査で陽性が確定した 4 名の検体より HIV 遺伝子を抽出し、この内、現在までに、3 名が感染していた HIV について分子疫学解析が終了した。(資料3の A、B、資料4の C)

今回解析できた 3 名から検出された HIV は、すべて国内で主に流行している遺伝子型であるサブタイプ B であった。しかしながら、遺伝的には互いにかなり離れており、近縁な同一の群とは言えなかった。対照として解析に加えた過去 5 年間に地域で検出された HIV の中には、今回検出されたそれぞれの HIV と遺伝的に近い HIV が複数みとめられた。また今回、1 名の検体から遺伝的に少し距離のある 2 種類の HIV が検出され、重複感染の可能性が示唆された。(資料3の A、A')

### 3.リスク因子の統合解析

現段階では行動疫学調査回答中の HIV 陽性者から得られた回答の数は少なく、回答のグループ化は困難である。従って回答の集計・解析はこれまでのところ実施していない。

## D. 考察

今回、特設検査場(chotCAST なんば)への説明段階では行動疫学調査への協力の約束が得られていたが、実際に質問紙を配付するなど研究を具体化して以降、すでにそれぞれの検査場で実施されているアンケート調査との兼ね合いから調整が上手く進まず、行動疫学調査を研究計画通りには実施できなかった。しかしながら、現在の特設検査場での年間の陽性者数(2014 年実績:35

件)を考慮すると、特設検査場での行動疫学調査を実施できれば、グループ分けできる程度の陽性者の回答・HIVの分子疫学情報を得ることが可能となると考えられる(資料3、4の下線で示した検体)。よって、今後も粘り強く交渉し、特設検査場での行動疫学調査の実施に向け努力したい。

過去数年間に同一地域で検出されたHIVを対照とした分子疫学解析の結果から、数年程度データを蓄積すれば、遺伝的に近縁なHIVに感染している群を把握することができ、その群の行動疫学調査の結果を解析することで、その群のリスク因子を把握出来る可能性が示唆された。

## E. 結語

診療所におけるHIV検査受検者を対象に、検査結果を関連づける行動疫学調査を実施し、少数ながら解析対象となるHIV陽性者の回答を得た。

今後調査を継続し、また協力施設を増やすことで、遺伝的に近縁なHIVに感染している群を把握することが出来ると考えられ、その群ごとにHIV陽性者の行動疫学調査回答を統合的に解析する事で、HIV感染に強く影響するリスク因子を明らかに出来ると考える。

## F. 発表論文等

(和文)

1. 森 治代、川畑拓也、小島洋子、永井仁美、田邊雅章、原田一浩、松本治子、溝端孝史、田中佐代子:大阪府におけるHIV/AIDSの現状と対策について、病原微生物検出情報、Vol.35、205-206、2014

(発表)-国内

1. 小島洋子、川畑拓也、森 治代、古林敬一、谷口 恭、井戸田一朗、駒野 淳:HIV感染者における新規Ae/GリコンビナントHBVの解析、第28回近畿エイズ研究会学術集会、2014年6月7日、大阪
2. 川畑拓也、森 治代、小島洋子、後藤大輔、町登志雄、鬼塚哲郎、塩野徳史、市川誠一、岳中美江、岩佐 厚、亀岡 博、菅野展史、杉本賢治、高田昌彦、田端運久、中村幸生、古林敬一:診療所を窓口としたMSM向け検査キャンペーン(2013年)、第4回日本性感染症学会関西支部総会、2014年6月28日、大阪
3. 川畑拓也、古林敬一:大阪府内の性感染症関連医療機関におけるHIV検査に関するアンケート調査、第4回日本性感染症学会関西支部総会、2014年6月28日、大阪
4. 川畑拓也、森 治代、小島洋子、後藤大輔、町登志雄、鬼塚哲郎、塩野徳史、市川誠一、岳中美江、岩佐 厚、亀岡 博、菅野展史、

杉本賢治、高田昌彦、田端運久、中村幸生、古林敬一:診療所を窓口としたMSM向け検査キャンペーン(2013年)、第28回日本エイズ学会、2014年12月3日、大阪

5. 川畑拓也、古林敬一:大阪府内の性感染症関連医療機関におけるHIV検査に関するアンケート調査、第28回日本エイズ学会、2014年12月3日、大阪
6. 川畑拓也:診療所におけるHIV検査の算定要件緩和前後における比較検討、第28回日本エイズ学会日本性感染症学会合同シンポジウム、2014年12月5日、大阪

(発表)-海外

1. Haruyo Mori, Yoko Kojima and Takuya Kawahata: Drug resistance mutations persist in HIV-1 proviral DNA despite 12 years of successful viral suppression, XX INTERNATIONAL AIDS CONFERENCE, 7.21.2014, Melbourne, Australia

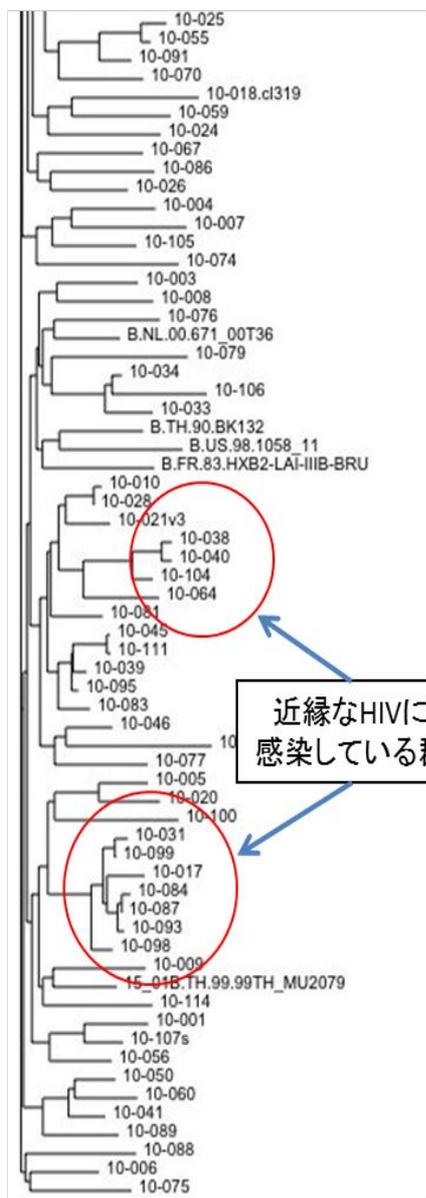
## G. 引用文献

1. 塩野徳史 他、日本成人男性におけるMSM人口の推定とHIV/AIDSに関する意識調査、厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「男性同性間のHIV感染対策とその介入効果に関する研究-平成21年度総括・分担研究報告書」、119-138、2010
2. 塩野徳史 他、HIV抗体検査受検者における特性と介入の効果評価に関する研究-HIV抗体検査を受検する人を対象とした質問紙調査、厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「MSMのHIV感染対策の企画、実施、評価の体制整備に関する研究-平成23年度~25年度総合研究報告書」127-171、2014
3. 嶋根卓也 他、インターネットによるMSMのHIV感染予防に関する行動疫学研究-REACH Online 2013-、厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「HIV感染予防対策の個別施策層を対象にしたインターネットによるモニタリング調査・認知行動理論による予防介入と多職種対人援助職による支援体制構築に関する研究-平成23年度-平成25年度総合研究報告書」、46-77、2014
4. Pathela P, Braunstein SL, Blank S, and Schillinger JA: HIV Incidence Among Men With and Those Without Sexually Transmitted Rectal Infections: Estimates From Matching Against an HIV Case Registry. Clin Infect Dis. first published online June 25, 2013 doi:10.1093/cid/cit437.
5. Ulrich M, Jasmin O, Marc G, Kai E, Karin W, and Andreas W: Risk factors for HIV

and STI diagnosis in a community-based HIV/STI testing and counselling site for men having sex with men (MSM) in a large German city in 2011–2012. BMC Infectious Diseases (2015) 15:14  
DOI:10.1186/s12879-014-0738-2

6. 井上洋士 他、調査結果報告会 Futures Japan キャラバンツアー, 2015年2月14日, 大阪

## 研究の流れ



分子疫学解析  
(結果のイメージ)

HIV検査受検時にリスク因子に関するアンケートを実施し、その回答を検査結果と関連づける。

検査で判明したHIV陽性検体からHIV遺伝子を抽出し、分子疫学解析を行う。

分子疫学解析の結果から、遺伝的に近縁なHIVに感染している群にグループ化する。

近縁なHIVに感染している群

グループ化されたHIV陽性者の行動疫学調査の回答を解析し、各群ごとに共通したリスク因子を明らかとする。

明らかとなったリスク因子の低下をコミュニティへ働きかけ、新規のHIV感染を減少させる。

## 資料2

### リスク行動を評価するためのアンケート ご協力をお願い

このアンケートは厚生労働省研究事業「個別施策層のインターネットによるエリクツ調査と教育・検査・臨床現場における予防・支援に関する研究(研究代表者:宝塚大学 日高庸晴)が実施する調査です。全部で17問あり、5分程度かかります。

- ご回答後のアンケートは密封したまま「アンケート事務局」に送られ、後日そこで初めて開封されます。
- 回答は後日検査結果と比較する場合がありますが、匿名化し個人を特定することはありません。
- アンケートへの回答・提出は任意です。提出しないことによる不利益は一切ありません。
- 回答しにくい質問にはそのまま空白でも結構です。途中で回答を取りやめることもできます。

同意いただいた方はアンケートに記入後、一緒にお渡しした封筒に密封して回収箱にお入れください。みなさまのHIV検査の利用実態と感染リスクを把握し、それらを検査結果と共に解析することで今後の日本のエイズ対策に活かすために必要なアンケートです。プライベートな項目についての個人情報も必ず守りますので、ぜひご協力をお願いします。

アンケート事務局: 研究分担者 大阪府立公衆衛生研究所 川畑拓也  
大阪市東成区中道1-3-69 TEL: 06-6972-1321

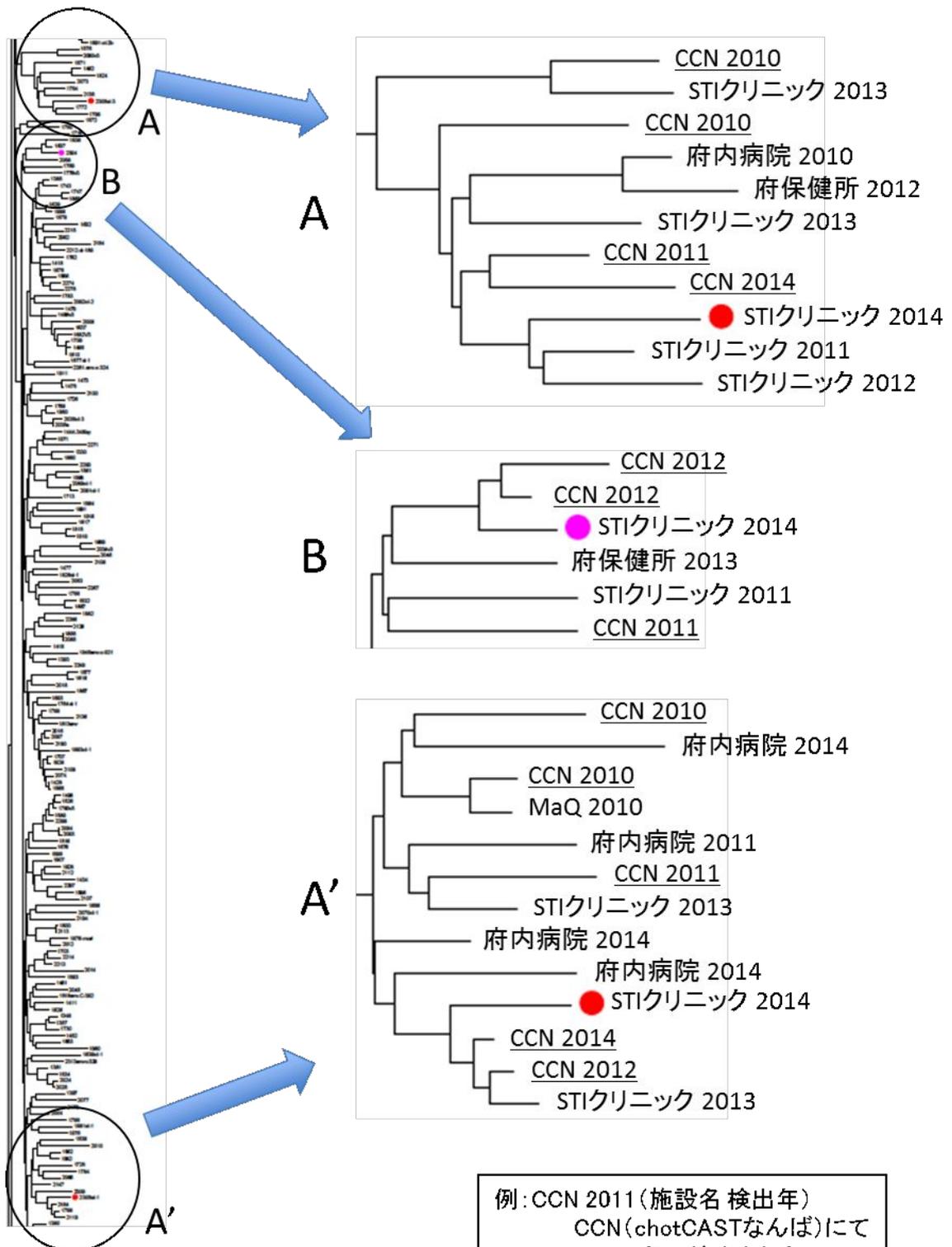
### アンケート

- 問1. あなたの年齢を教えてください。( )歳
- 問2. あなたの住まいはどちらですか?  
1 大阪市 2 高槻市  
3 豊中市 4 東大阪市  
5 堺市 6 枚方市  
7 大阪府(上記の6市以外) 8 京都府  
9 兵庫県 10 奈良県  
11 和歌山県 12 その他( )
- 問3. あなたの身体的な性別を教えてください。  
1 男 2 女  
3 その他( )
- 問4. あなたの性的指向を教えてください。  
1 異性愛者 2 両性愛者  
3 男性同性愛者 4 女性同性愛者  
5 判らない 6 決めたくない  
7 その他( )
- 問5. 今回HIV検査(エイズ検査)を受けるに至った心配なことを教えてください。(当てはまる項目すべてに✓)  
1 男性との性行為 2 女性との性行為  
3 医療従事者としての針刺し  
5 注射針の他者との共用 6 その他( )
- 問6. 今回を除いて、これまでにHIV検査(エイズ検査)を受けたことがありますか?  
1 過去1年間にある 2 過去3年間にある  
3 過去3年間より前にある 4 過去に一度もない
- 問7. これまでにHIV検査(エイズ検査)を受けた検査場所はどこですか?(当てはまる項目すべてに✓)  
1 保健所・保健センター 2 chotCASTなんば  
3 病院 4 クリニック・医院・診療所  
5 郵送検査 6 その他( )  
7 500(1,000)円キャンペーンの際にクリニック・診療所で
- 問8. これまでに医療機関で、性感染症にかかっていると診断されたことがありますか?  
1 ある 2 ない 問10へ
- 問9. これまでに診断された性感染症は何ですか?(当てはまる項目すべてに✓)  
1 梅毒 2 A型肝炎  
3 B型肝炎 4 C型肝炎  
5 淋菌感染症 6 クラミジア  
7 尖圭コンジローマ 8 アーバー赤痢  
9 性器ヘルペス 10 その他( )
- 問10. これまでに次のドラッグ(違法・合法問わず)を使ったことがありますか?(当てはまる項目すべてに✓)  
1 大麻 2 5-MeO-DIPT(ゴマ)  
3 MDMA(エクスタシー) 4 覚せい剤  
5 ラッシュ 6 ガス(エアダスター)  
危険ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)  
7 ルーブ系(植物片) 8 バウダ系(粉末状)  
9 リキッド系(液体状)  
10 勃起改善薬・漢方精力剤  
11 いずれかの薬物を、注射器・注射針で使用した  
12 いずれもない
- 問11. あなたは、過去6ヶ月間に次の経験がありますか?(当てはまる項目すべてに✓)  
1 ヌカ系クラブに行ったこと  
2 ビデオヌカ系クラブに行ったこと  
3 マシオン系クラブに行ったこと  
4 野外系クラブ(公園や川など)に行ったこと  
5 クラブ(男only)に行ったこと  
6 ゲイバーに行ったこと  
7 お金を払って男性とヌカしたこと  
8 お金を貰って男性とヌカしたこと  
9 ゲイバー(対あり)に行ったこと  
10 SNSやアプリを通じて出会った男性とヌカしたこと  
11 一般の銭湯・ヌカに行ったこと  
12 公共のプールに行ったこと  
13 いずれもない
- 問12. あなたは、過去6ヶ月間に男性とヌカしましたか?(ここでいうヌカとは、フェラチオ、アナルヌカ、相互ヌカペーションを指します。)  
1 はい 2 いいえ 問17へ
- 問13. あなたは、過去6ヶ月間にどのようなプレイをしましたか?(当てはまる項目すべてに✓)  
1 相互ヌカペーション 2 フェラチオ
- 問14. 過去6ヶ月間にヌカした男性との関係をお答えください。(当てはまる項目すべてに✓)  
1 彼氏や恋人など特定の相手  
2 友達やセフレ  
3 その場限りの相手
- 問15. 過去6ヶ月間におけるアナルヌカ(自分が挿入する時:いわゆる「ヌカ」)の時のコンドームの使用状況をお答えください。  
1 アナルヌカ(ヌカ)しなかった 2 必ず使用  
3 使用多かった 4 五分五分  
5 不使用多かった 6 不使用
- 問16. 過去6ヶ月間におけるアナルヌカ(自分が挿入される時:いわゆる「ヌカ」)の時のコンドームの使用状況をお答えください。  
1 アナルヌカ(ヌカ)しなかった 2 必ず使用  
3 使用多かった 4 五分五分  
5 不使用多かった 6 不使用
- 問17. 本日の検査やこの調査について、ご意見・ご感想があればご記入ください。

ご協力ありがとうございました。封筒に密封して回収箱に入れるか窓口にご提出ください。

資料3

分子疫学解析の結果(1)

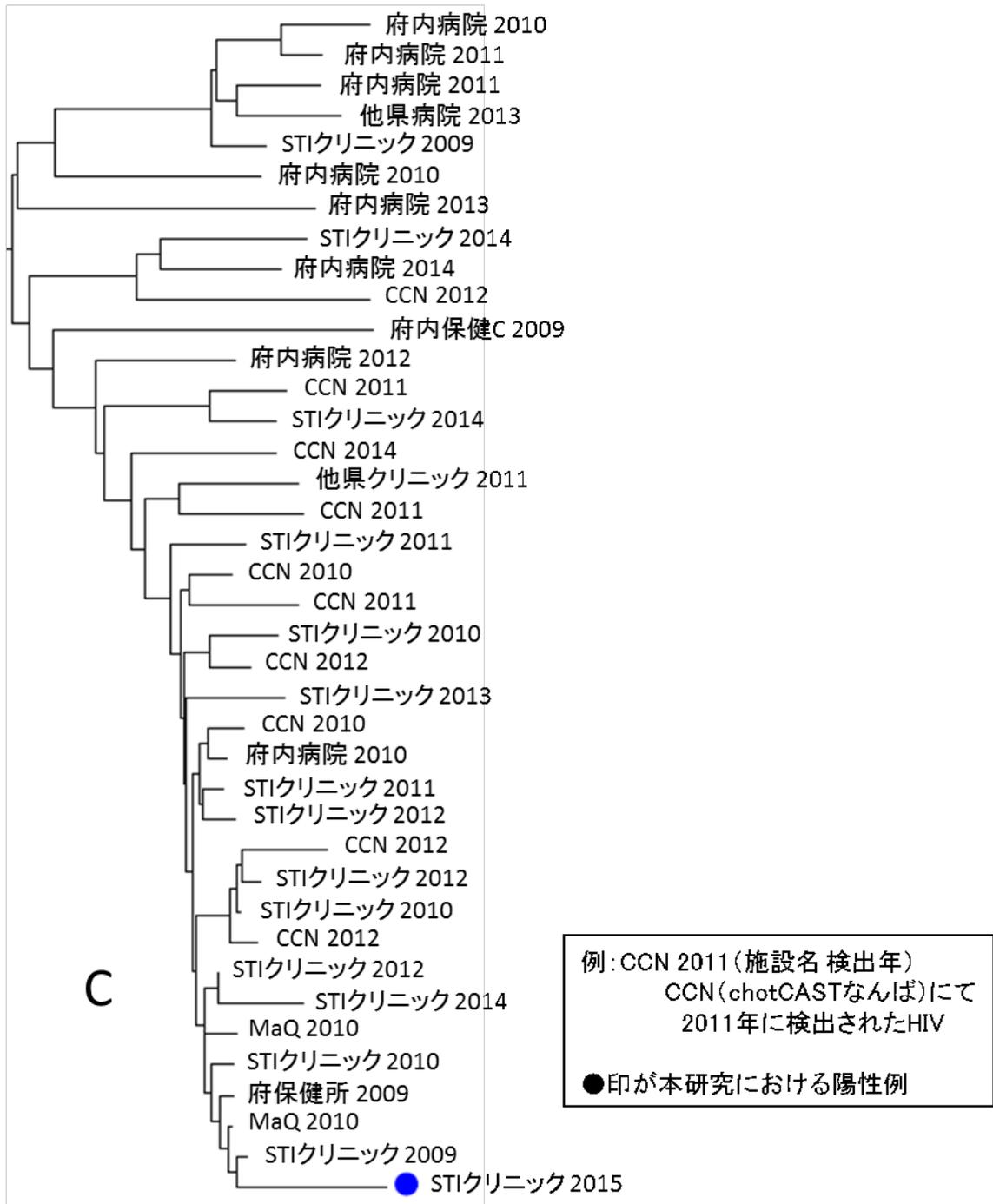


大阪府内で検出されたHIVの遺伝子系統樹(2009-2015年)

例: CCN 2011(施設名 検出年)  
 CCN(chotCASTなんば)にて  
 2011年に検出されたHIV  
 ●印が本研究における陽性例

資料4

分子疫学解析の結果(2)



大阪府内で検出されたHIVの  
遺伝子系統樹の一部(2009-2015年)